

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Hermann Franke

DER AUSSAGEWERT DER AMMONIAKBELASTUNG
ALS FUNKTIONSPROBE BEI DER
ISOLIERT PERFUNDIERTEN SCHWEINELEBER

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Volker Goehlich

aus Berlin

1972

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. Hermann Franke

Der Aussagewert der Ammoniakbelastung als Funktionsprobe
bei der isoliert perfundierten Schweineleber



Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Volker Goehlich
Berlin

Referent: Professor Dr. med. R. Häring

Korreferent: Professor Dr. med. H. J. Dulce



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: **27.4.72**

MEINEN ELTERN GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung
2. Hauptteil
 2. 1 Der Ammoniak- und Harnstoffstoffwechsel in der Leber
 2. 2 Verschiedene Techniken der Ammoniakbestimmung
 2. 3 Eigene Methodik
 2. 3.1 Versuchstiere
 2. 3.2 Narkosetechnik
 2. 3.3 Apparativer Aufbau
 2. 3.4 Operatives Vorgehen
 2. 3.5 Versuchsbedingungen
 2. 4 Ergebnisse
 2. 5 Diskussion
3. Zusammenfassung
4. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Bereits zahlreiche Autoren haben sich mit der Frage beschäftigt, welchen Einfluß der Ammoniak im menschlichen Organismus hat, wie man die Höhe des NH_3 beeinflussen kann und in welchem Umfange eine Prüfung des NH_3 -Stoffwechsels Rückschlüsse auf die Gesamtfunktion der Leber zuläßt. Dabei sind sehr unterschiedliche Wege eingeschlagen worden. LAMBILOTTE (21), GEŮMEI (12) u.a. versuchten beispielsweise, mittels der NH_3 -Belastungsprobe Aufschluß über die Zirkulation in der Leber zu erhalten. So stellten sie fest, daß bei Infusion von NH_4Cl in die arteria hepatica kein Anstieg des NH_3 im peripheren Blut, bei Infusion in die vena portae jedoch ein starker Anstieg des Ammoniaks im Blut erfolgte. Damit gelang ihnen der Nachweis, daß im präsinoidalen Strombett ein Shunt zwischen den kleinen Ästen der vena portae und den Lebervenen besteht.

EISEMAN (8) stellte Untersuchungen zum Koma hepaticum an und injizierte NH_4^+ in die arteria carotis. Danach traten unter Ausbildung des komatösen Zustandes Krämpfe auf. Dabei fiel die alpha-Ketoglutarsäure im Gehirn auf 15 % ab. Das legte nahe, die Ammoniakintoxikation als Störung des Krebs-Johnson-Zyklus mit einem Verbrauch der alpha-Ketoglutarsäure zu sehen, weswegen die Behandlung mit alpha-Glutaratgabe sinnvoll erschien. Andererseits konnte PEARLMAN (36) durch Glutamatgaben eine Senkung des NH_3 im Serum beim Koma erzielen. Bei diesen engen Beziehungen verwundert es nicht, daß die Ammoniakbestimmung im Blut nach Gabe einer Testdosis als Leberfunktionsprobe empfohlen worden ist (OTTO (34), ROMER (39), SCHMITT (42), VAN WYK (49) etc.), und daß damit auch die Beschreibung der Harnstoffsynthese Auskunft über die Integrität der Organe geben kann. Deshalb finden sich in der Literatur aber ebenfalls sehr unter-

schiedliche Angaben. BOHLEY (2) stellte fest, daß bei Sauerstoffmangel zwar noch Harnstoff gebildet wird, jedoch nur die Hälfte bis zu einem Drittel der normalen Synthese und zwar 1 mg/h je 10 g Leber. Ein Teil davon stammt nicht aus der Harnstoffsynthese, sondern aus dem auteproteolytisch freigesetzten Arginin. Bei einem $\text{pH} < 6,5$ wird kein Harnstoff mehr gebildet. Erschwert wird die Bewertung der NH_3 -Funktionsteste darüber hinaus dadurch, daß der exakte Nachweis des Ammoniaks im Blut mit vielen Fehlern behaftet ist. Es sind daher zahlreiche Verbesserungen in der Methodik der NH_3 -Bestimmung empfohlen worden, die letztlich auch zu einer Vereinfachung der Technik geführt haben. Ziel der Arbeit ist es, zu untersuchen, ob an Hand der Ammoniakbelastungsprobe und der Harnstoffsynthese die globale Beurteilung der Leberfunktion möglich ist.

2.1 Der Ammoniak- und Harnstoffstoffwechsel in der Leber

Die Ammoniakbildung findet hauptsächlich in Niere und Darm statt, und zwar haben im Darm zwei Mechanismen an der Ammoniakbildung teil, die durch Bakterienenzyme gesteuert werden. Einmal entsteht durch bakterielle Glutaminase Ammoniak aus Glutamin und zum anderen durch bakterielle Urease aus Harnstoff. Das Glutamin wird durch hydrolytische Fermente aus dem Nahrungsmittelleiweiß abgespalten. Der Harnstoff stammt aus der endogenen Harnstoffsynthese. Eine Hemmung der enzymatischen Hydrolyse des Harnstoffs ist nach PHILIPPS (38) durch Neomycin und Ureasehemmer (AHA) möglich. Außerdem wird Ammoniak aber noch beim Abbau von Aminosäuren und anderen N-haltigen Substanzen in jeder Körperzelle gebildet. Der Ammoniak liegt nach MÜTING (30) bei 37°C und einem pH-Wert von 7,4 überwiegend als NH_4^+ -Ion vor und kann als solches die Zellmembran nicht passieren, so daß entsprechend der Gleichgewichtsreaktion $\text{NH}_4^+ = \text{NH}_3 + \text{H}^+$ permeabler Ammoniak entsteht und in der Zelle reionisiert wird. Ammoniak folgt keinem Transportmechanismus, sondern nur der Diffusion nach dem Fick'schen Gesetz

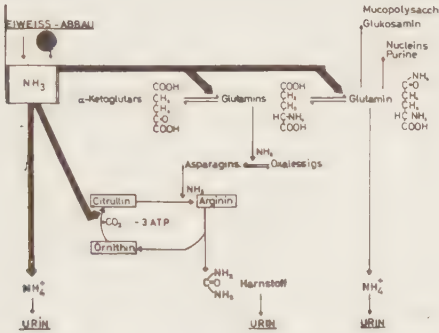
$$d_n = D \cdot \sigma \cdot \frac{d_c}{d_x} \cdot d_t$$

$$\text{Menge} = \text{Konstante} \cdot \text{Querschnitt} \cdot \frac{\text{Konzentration}}{\text{Abstand}} \cdot \text{Zeit}$$

Die Ausscheidung ist daher neben dem Diffusionsquerschnitt im wesentlichen vom Konzentrationsgefälle und vom Zeitfaktor abhängig.

Da Ammoniak ein starkes Zellgift ist, wäre sein Übergang in den allgemeinen Kreislauf schädlich. Dies wird durch sehr potente Entgiftungsmechanismen verhindert. Die wichtig-

sten sind von PFLEIDERER (37) in folgendem Schema skizziert worden:



Erstens steht der gasförmig im Serum gelöste Ammoniak im Gleichgewicht mit den Ammoniumionen, die über die Niere ausgeschieden werden können. Zweitens erfolgt eine Anlagerung an Stoffwechselzwischenprodukte z.B. an alpha-Ketoglutarat, Glutamat und Oxalacetat. Drittens ist die Bildung von Harnstoff im sogenannten Harnstoffzyklus möglich. Dabei lagert sich Ammoniak über die Bildung von Carbamylphosphat an Ornithin an. Es entsteht Citrullin, welches durch Anlagerung eines weiteren Moleküls Ammoniak in Arginin übergeht. Arginase spaltet Arginin in Ornithin und Harnstoff; der Zyklus ist geschlossen, und es können erneut zwei Moleküle Ammoniak gebunden werden.

2.2 Verschiedene Techniken der Ammoniakbestimmung

Da die Leber viele Einzelfunktionen ausübt, gibt es anders als bei der Niere keinen Funktionstest, der eine globale Aussage über den Zustand des Organs zuläßt. Bei der Niere genügt die Aufschlüsselung des Urins, um Rückschlüsse auf den Zustand der Niere ziehen zu können, während eine Aufbereitung der Galle nur einige Parameter der Leberfunktion widerspiegelt. Da durch Ammoniakgaben und die damit gekoppelte Harnstoffsynthese weitere Rückschlüsse möglich sind, beschäftigten sich schon 1896 NENCKI und ZALESKI (33) mit der Bestimmung des Ammoniaks im Blut. Der Ammoniak wurde unter Anwendung von Kalkmilch in $\frac{n}{10}$ Säure mit Vacuumdestillation abgetrennt und dann mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge zurücktitriert. Die Autoren erhielten Werte von 27 mg/l NH_3 - N in vena cava und 15 mg/l NH_3 - N im arteriellen Blut.

Der nächste Schritt in der Entwicklung war die Methode von FOLIN und DENIS (10), das sogenannte Lüftungsverfahren. Auch NASH und BENEDICT (13) benutzten diese Technik. Dabei werden 10 ccm Blut mit 2-3 ccm 15%igem Kaliumoxalat, 10%igem Na_2CO_3 und 5 ccm Toluol gemischt. Ammoniak wird mittels Durchsaugen von ammoniakfreier Luft aus der Flüssigkeit entfernt und in einer Vorlage, in der sich 5-6 Tropfen $\frac{n}{10}$ Säure und 1 ccm Wasser befinden, aufgefangen. Nach Beendigung des Saugens wird Ammoniak kolorimetrisch mit Nessler's Reagenz nachgewiesen. FOLIN und DENIS bestimmen Werte von 5-6 mg/l NH_3 - N arteriell und 10-12 mg/l vena hepatica. VAN SLYKE und HILLER (45) verwendeten ebenfalls das Lüftungsverfahren, wiesen den Ammoniak jedoch mit der Berthelot-Reaktion nach. Sie erhielten Werte von 0,5 mg/l NH_3 - N arteriell und 0,64 mg/l NH_3 - N für Venenblut. NASH und BENEDICT nahmen nur 5 ccm Blut und führten die Luftdestil-

lation mit 4 l/min. nur etwa 10 Minuten durch und kamen zu Werten von 0,3-1,4 mg/l NH_3 - N.

Das Lüftungsverfahren wurde durch die Destillationsmethode abgelöst, deren Bedeutung in drei Verbesserungen lag:

1. Hemmung der Ammoniakbildung durch Boratlösung,
2. in der Schnelligkeit der Destillation und
3. in der Möglichkeit, Kontrollversuche durchführen zu können.

Sie wurde von PARNAS, HELLER und STANOJEVIC (46) ausgearbeitet. Blut wird in einem paraffinierten Kolben mit Natriumboratlösung versetzt. Die Reagenzien sind durch vorherige Destillation ammoniakfrei gemacht. Darüber wird Wasserdampf unter einem Überdruck von 1 Atmosphäre geleitet. Das NH_3 entweicht und wird aufgefangen. Die Bestimmung des Ammoniaks erfolgt durch Nesslerisation. PARNAS und HELLER erhielten Werte von 0,3 mg/l, STANOJEVIC den Mittelwert von 0,26 mg/l.

Eine Weiterentwicklung dieser Methode ist das Diffusionsverfahren. Es wurde von CONWAY (4) angegeben und von verschiedenen Autoren z.B. MARTINI (26), ZÖLLNER und BIRK (50), BROWN et al (3), NATHAN und RODKEY (32), WHITE, PEAR et al (48) verwendet und modifiziert. Das Prinzip beruht darauf, daß NH_3 durch Diffusion in eine Vorlage gelangt. In der Vorlage wird NH_3 gebunden oder chemisch so verändert, daß fast kein Gasdruck mehr ausgeübt wird. Durch das so entstehende Konzentrationsgefälle diffundiert dauernd neuer Ammoniak nach, bis alles übergegangen ist. Man benutzt dazu eine Conway'sche Schale, in deren Mittelteil man Schwefelsäure einbringt. In den äußeren Teil wird auf die eine Seite die Boratlösung und auf die andere die zu untersuchende Blutprobe gebracht. Das Glas wird verschlossen, und durch Schwenken wird die Boratlösung an die Stelle der Blutprobe gebracht, so daß es zur Freisetzung von Ammoniak kommt. CONWAY benutzte

K_2CO_3 , um das Blut zu alkalisieren und Ammoniak freizusetzen. Er bevorzugte 10 Minuten und bestimmte den gesammelten Ammoniak mittels Titration. Wegen der gegenüber Wasser verzögerten Diffusion des NH_3 aus dem Blut müssen die Werte korrigiert werden. Der Korrekturfaktor wurde von CONWAY mit 1,15 angegeben. Unter diesen Umständen fand er kein Ammoniak im frischen Blut. Erst nach Verminderung des CO_2 durch Stehen an der Luft konnte auch er NH_3 im menschlichen Blut nachweisen. Diesen Ammoniak nannte er alpha-Ammoniak, er betrug 0,46 g/l.

SELIGSON und HIRAHARA (43), die die Methode von CONWAY überprüften und modifizierten, kamen zu dem Schluß, daß sich $1,37 \text{ g/l} \pm 0,26 \text{ NH}_3 - \text{N}$ im Blut befanden. ZÖLLNER und BIRK bestimmten Ammoniak durch Rücktitration. Sie bekamen einen Normalwert des Blutammoniakspegels von 0,52 mg/l. MARTINI (25), der die Mikrodiffusionsmethode mit anschließender kolorimetrischer Bestimmung mit der Berthelot-Reaktion benutzte, bekam $5,3 \pm 1,3 \text{ µg/l}$. BROWN et al 39 mg/l, WHITE, PEAR et al $79 \pm 9 \text{ mg/l}$, und sie behaupten, daß keine meßbare Ammoniakmenge im peripheren Blut sei und der Wert, den sie nach 3 Minuten fanden, ist der, den alle als Blutammoniak bezeichnen. NATHAN und RODKEY benutzten für ihre Mikrodiffusionsanalyse eine enteweißte Blutprobe und bestimmten den Ammoniakgehalt mittels der Ninhydrinreaktion und erhielten Werte von $77 \pm 28 \text{ mg/l}$.

Diesen Verfahren gemeinsam war die Verdrängung des NH_3 aus dem Blut, welches in einer Vorlage gesammelt und bestimmt wurde. Im Gegensatz hierzu stehen nachfolgende Methoden, bei denen der Ammoniak durch Bindung an geeignete Ionenaustauscher isoliert wird und nach Elution kolorimetrisch gemessen wird. Diese Methode benutzten z.B. DIENST (7), HUTCHINSON und LABBY (16) und MILLER und RICE (28). Dabei werden

Teströhrchen, sogenannte Ammoniumadsorptionssäulen mit Harz gefüllt und durch diese Säulen tropfen 30 ml 0,1n Natronlauge und 100 ml Puffer (pH 7,4). Der Überstand wird aufgefangen. Blut wird in heparinisierten Spritzen aufgezogen und zentrifugiert. Eine dieser im Gleichgewicht befindlichen Ammoniumadsorptionssäulen wird unter eine Harzsäule gebracht, und 10 ml destilliertes Wasser werden durch die Harzsäule geschickt. 3 ml Plasma werden jetzt auf das Harz in die gewaschene Adsorptionssäule pipettiert. Dann werden wieder 40 ml destilliertes Wasser in die Harzsäule geschickt und tropfen in das Röhrchen. Diese Probe ist für die Bestimmung fertig, man wartet aber ca. 12 Stunden oder bis das Harz zu trocknen beginnt. Ammoniak wird bestimmt, indem man durch das Teströhrchen 0,1n Natronlauge in ein graduiertes Gefäß, das einen Tropfen "ghetty-gum"-Lösung enthält, tropfen läßt. 9 ml Flüssigkeit werden mit 1 ml Nesslers Reagenz gemischt, in eine Küvette gebracht und mit einem Coleman-Spektrophotometer gegen eine Probe gemessen. DIENST erhielt Ammoniakwerte von 48 ± 3 mg/l arteriell und im venösen Blut von 0-42 mg/l. HUTCHINSON und LABBY 39 ± 11 mg/l und MILLER und RICE 33 ± 9 mg/l.

Einfacher ist die Bestimmung des Ammoniaks ohne vorherige Isolierung, indem die Probe mit Trichloressigsäure enteiweißt wird. Der Nachweis erfolgt mit der Berthelot-Reaktion. Dieses Verfahren benutzten KONITZER und VOIGT (20). KONITZER und VOIGT enteiweißten mit Trichloressigsäure, 1 ml des Überstandes wurde im Eishad gegen Methylorange mit 1n Natronlauge bis zum Umschlag von rot nach gelb titriert. Hinzu kommen 1 ml Natriumphenatlösung, 1 ml Phosphatpuffer, 1 ml verdünnte Natrium-Nitroprussidlösung und 1 ml Natrium-Hypochlorit. Die Probe wird 30 Minuten im Dunkeln gelassen und Ammoniak kolorimetrisch bestimmt. Die Werte für $\text{NH}_3 - \text{N}$ im

Blut waren 112 ± 22 mg/l.

MÜLLER-BEISSENHIRTZ und KELLER nahmen 2 ml Blut, gaben dieses sofort in ein im Eisbad stehendes Zentrifugenglas mit 2 ml Trichloressigsäure und zentrifugierten es ab. 1,5 ml des Überstandes wurden in ein Reagenzglas gegeben, hinzu kamen 2 ml Phenolreagenz, und es wurde geschüttelt. Dann wurden 2 ml Hypochloridreagenz hinzugegeben, geschüttelt und zur Farbentwicklung 30 Minuten in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Die Extinktionsmessung erfolgte im Photometer Eppendorf bei 578 nm gegen eine Wasserprobe. Sie erreichten als Mittelwert der Ammoniakkonzentration 0,81 mg/l. SCHMITT et al verwendeten die gleiche Methode und erhielten einen Mittelwert von $0,79 \pm 0,17$ mg/l. Ein weiteres Verfahren basiert ebenfalls auf der direkten Bestimmung des Ammoniaks im TCE-Extrakt. Der Nachweis des NH_3 erfolgte jedoch mit einem enzymatischen Verfahren. Diese Bestimmungsmethode wurde angegeben von SCHMIDT, SCHWARZ (41), KIRSTEN et al (19). Erstere fanden 0,30-0,80 mg/l NH_4^+ ; KIRSTEN et al 7,2 mg/l NH_4^+ .

2.3 Eigene Methodik

Die Untersuchungen wurden in einem geschlossenen System vorgenommen. Eine unter sterilen Bedingungen entnommene Schweineleber wurde in einem Perfusionssystem angeschlossen, in welchem arteria hepatica und vena portae getrennt durchströmt werden konnten. Als Perfusionsmedium diente homologes Blut. Die Perfusionstemperatur betrug 10°C. Diesem Medium sind nach Erreichen einer stabilen Phase die Testsubstanzen zugefügt worden. Die Ammoniakbelastung erfolgte mit 5 mg Ammoniumcitrat. Die Konzentration ist nach 4, 6, 10, 20, 40, 60 Minuten gemessen worden. Wir haben Ammoniak nach der von SCHMIDT und SCHWARZ angegebenen Methode bestimmt. Dieser Methode liegt die Reaktion

$$\text{Ketoglutarat} + \text{NH}_4^+ - \text{H}^+ + \text{DPNH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{Glutamat} + \text{DPN} + \text{H}_2\text{O}$$

zugrunde. Dabei ist die Ammoniakkonzentration dem gebildeten DPN und damit dem Extinktionsabfall im Photometer bei 365 mp direkt proportional.

Es werden 2 ml Vollblut sofort nach der Entnahme in 2 ml eiskalte Trichloressigsäure gegeben und zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wird in eine Küvette pipettiert, in der sich 1 ml K_3PO_4 -Lösung befindet und geschüttelt. Dann gibt man 1,5 ml Testgemisch hinzu, rührt und liest im Photometer Eppendorf die Extinktion ab. Man setzt 0,4 ml GLDH hinzu und liest nach 30-40 Minuten erneut die Extinktion ab. Die dabei gefundene Extinktionsdifferenz (ΔE) ist in folgende Berechnung einzusetzen:

$$\frac{\Delta E : 18 \cdot 3,54}{3,3 \cdot 2} = \Delta E \cdot 9,65 = \text{NH}_4^+ / \text{Testansatz}$$

Da der Ansatz einer Menge von 0,5 ml Blut entspricht, ist der gefundene Wert mit 200 zu multiplizieren, um die Konzen-

tration in $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ auszudrücken. Gleichzeitig wird ein Leerwert, in dem sich Aqua bidest und ein Eichwert, in dem sich Ammoniumsulfat befinden so behandelt und gemessen und der Leerwert von dem gefundenen Wert subtrahiert.

Harnstoff wurde nach der von J.K. FAWCETT angegebenen Methode mit Biochemica Test Combination der Fa. Boehringer bestimmt. 0,1 ml Serum wurden mit 0,9 ml physiologischer Kochsalzlösung vermischt und 0,2 ml dieser Verdünnung zur Bestimmung eingesetzt. Drei Reagenzgläser wurden folgendermaßen beschickt: das erste mit 0,1 ml Suspension 1 (1 mg Urease/ml), das zweite mit 0,1 ml Suspension 1 und 0,20 ml Lösung 2 (0,03 mg Harnstoff/ml) und das dritte mit 0,1 ml Suspension 1 und der zu bestimmenden Probe. Die Reagenzgläser wurden verschlossen und blieben 15 Min. bei 37°C im Wasserbad stehen. Dann kamen in jedes Reagenzglas 5 ml Lösung 3 (0,106 M Phenol; 0,17 mM Nitroprussid-Natrium) und 5 ml Lösung 4 (11 mM Natriumhypochlorid; 0,125 M Natronlauge). Nach der Zugabe von Lösung 4 wurden die Inhalte gemischt und kamen 30 Min. ins Wasserbad bei 37°C . Es wurden die Extinktion der Probe und die Extinktion des Standards bei 546 nm gegen den Leerwert gemessen. Für die Berechnung der Werte wurde folgende Formel angewandt:

$$\frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \cdot 30 = \text{mg Harnstoff}/100\text{ ml Serum}$$

Lactat und Galactose sind im Forschungslabor der Chirurgischen Klinik durch Frl. A. Pannhorst und Frl. G. Kittlaus für die Versuchsreihe gemessen worden. Die Bestimmungen erfolgten nach folgenden Methoden:

1. Lactat (H.J. HOHHORST)
2. Galactose im UV-Farbtest mit Biochemica Test Combination.

Die Jod¹³¹-Bengalrosa-Belastung erfolgte mit 10 mC.
Die Messungen wurden von Herrn Dr. H. Botsch im Institut für Nuklearmedizin durchgeführt.

2.3.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an Organen durchgeführt, die 30-35 kg schweren Hausschweinen entnommen worden sind. Die Tiere sind 24 Stunden vor der Organentnahme zum letzten Mal gefüttert worden.

2.3.2 Narkosetechnik

Prämedikation mit Stresnil (R) (4 mg/kg Körpergewicht) und 0,5 mg Atropin.

Einleitung der Narkose mit Nembutal (10 mg/kg Körpergewicht).
Intubation oder Tracheotomie und Fortsetzung der Narkose durch assistierte Beatmung mit einem Lachgas-Halothan-Sauerstoff-Gemisch.

2.3.3 Apparativer Aufbau

Nach der Spülung wird die Leber in einer Organschale gelagert und die zuführenden kanülierten Lebergefäße mit dem Perfusionssystem verbunden. Dieses besteht aus einer Organkammer, in welcher sich die Organschale und die Leber befinden. Die Lebervenen sind nicht kanüliert. Das Perfusat fließt in die Organschale und von dort durch Pumpen zum Oxygenator. Nach Anreicherung des Perfusionsmediums mit

Sauerstoff gelangt es in das arterielle Reservoir, von welchem es über einen Wärmeaustauscher und einen Filter zur Leber gelangt. Die arteria hepatica wird dabei pulsierend und vena porta hydrostatisch durchströmt. Als Perfusionsmedium wurde vergleichsweise ein dextranshaltiges Perfusat, ein albuminhaltiges Perfusat und kryopräzipitiertes Serum benutzt. Nach Abschluß der Konservierungsphase sind dem hämoglobinfreien Perfusat gewaschene homologe Erythrozyten hinzugesetzt worden. Die Perfusion wurde bei einem arteriellen Druck von 100 mm Hg und einem Pfortaderhochdruck von 16-20 cm H₂O mit einem Gesamtflow von 0,7-1,0 ml/g/min. durchgeführt. Das Organ wurde auf 39°C langsam erwärmt und nach Erreichen eines steady-state die einstündige Meßphase angeschlossen. In dieser sind die Belastungsproben durchgeführt worden.

Als Testsubstanzen sind 3 g Galactose, 5 mg Trihydrogenammoniumcitrat, 10 mC Jod¹³¹ markiertes Bengalrosa zugefügt worden.

2.3.4 Operatives Vorgehen

Das Organ wurde unter sterilen operativen Bedingungen entnommen. Zunächst Isolierung des ductus choledochus, welcher ligiert und durchtrennt wurde. Es folgte die Kanülierung der Gallenblase, dann Freilegung der vena cava inferior, vena portae und arteria hepatica. Durchtrennung des ligamentum hepatogastricum und der Aufhängebänder der Leber. Nach zirkulärer Umschneidung des Diaphragmas ist die Leber nur noch durch die zu- und abführenden Gefäße mit dem Kreislauf verbunden. Bei noch pulsierender arteria hepatica wird die Pfortader kanüliert und mit der Organspülung in situ begonnen. Nach Erreichen einer Lebertemperatur von 20°C wird auch die arteria hepatica durchtrennt und kanüliert.

Die Spülung wird dann über beide Versorgungsgefäße der Leber fortgesetzt bis die ausfließende Waschflüssigkeit (Sterofundin 4°C gekühlt, Einflußdruck arteria hepatica 100 mm Hg und vena portae 40 cm H₂O) klar ist und eine Organtemperatur von 10-15°C erreicht ist.

2.3.6 Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Geändert wurden Konservierungstemperatur, Perfusionsmedium, Durchströmungsvolumina und Perfusionsdrucke, um die günstigsten Perfusionsbedingungen zu ermitteln. An Hand verschiedener Parameter wie die hämodynamischen Größen, die Enzymaktivitäten und die Kaliumkonzentration im Perfusat, des L/P-Quotienten und verschiedener Funktionsproben (Galactose, Lactat-Clearance, Sauerstoffutilisation und Jod¹³¹-Elimination) ließen sich drei unterschiedliche Gruppen ablesen:

Gruppe I: nicht veränderte Funktionsparameter

Gruppe II: eingeschränkte Funktion mit leicht veränderten Parametern

Gruppe III: stark gestörte bzw. aufgehobene Funktion.

Unter nicht veränderter Funktion verstehen wir die voll erhaltene Eliminationskapazität von Galactose, Jod¹³¹, eine im physiologischen Bereich liegende Sauerstoffutilisation, ein Fehlen der Kaliumakkumulation sowie die Konstanz der Serumenzymaktivitäten.

Unter II sind die Versuche zusammengefaßt, bei denen bereits in der Kaltphase ein leichter Anstieg der Serumenzymaktivitäten sowie eine Kaliumakkumulation eingetreten war. Die Sauerstoffutilisation hielt sich in physiologischen Bereichen. Der L/P-Quotient war jedoch in der Kaltphase schon leicht erhöht bis zu 20 und die Testsubstanzen wurden verzögert ausgeschieden.

In Gruppe III bestand eine starke Kaliumakkumulation und ein Anstieg der Enzymaktivitäten auf unphysiologische Werte. Die Sauerstoffutilisation war hochgradig eingeschränkt und die Ausscheidung von Bongalrosa, Lactat und Galactose in

der Warmphase aufgehoben.

Ziel der Arbeit war, das Verhalten der Ammoniakbelastungsprobe und der Harnstoffsynthese in diesen drei Gruppen zu untersuchen. Als wichtigste vergleichende Untersuchungen wurden die Jod¹³¹- und Galactose-Elimination und Lactat herangezogen.

2.4 Ergebnisse

Einleitend werden die Einzelwerte der drei Untersuchungs-
serien tabellarisch dargestellt. Nach folgenden Formeln
(FREUDENBERG (11)) wurden daraus die Mittelwerte, Stan-
dardabweichungen und Signifikanzen berechnet:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} \quad s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad s_{\Delta} = \sqrt{\frac{s_x^2}{n_x} + \frac{s_y^2}{n_y}}$$

Bei der Signifikanzberechnung wurde davon ausgegangen, daß
als nicht signifikant $\Delta < 2s_{\Delta}$ gilt, als wahrscheinlich signi-
fikant, wenn $2s_{\Delta} < \Delta < 3s_{\Delta}$ und als sicher signifikant $\Delta > 3s_{\Delta}$ ist.

Bei der Ammoniakbestimmung wurde der 4-Minuten-Wert als
Bezugspunkt mit 100% festgesetzt (Tabelle 1).

Die Harnstoffwerte wurden in mg/l bezogen auf 100 g Leber-
gewicht ausgedrückt (Tabelle 2).

Bei der Bengalrosa-Ausscheidung wurde wie bei der Ammoniak-
bestimmung der 4-Minuten-Wert als 100% festgesetzt (Tabelle 3).

Die Galactosewerte wurden in g/l angegeben (Tabelle 4).

Bei der Lactatmessung wurde vom 0-Minuten-Wert als 100%
ausgegangen (Tabelle 5).

Tabelle 1

Serie I					Serie II					Serie III					Min.
6	10	20	40	60	6	10	20	40	60	6	10	20	40	60	
69	50	7	0	0	82	49	3	2	0	100	70	91	89	87	
92	47	10	5	5	100	98	92	64	16	81	93	119	--	137	
79	22	6	5	7	94	82	66	60	21	--	96	87	80	75	
86	51	31	14	6	10	5	7	7	7	98	96	96	94	94	
52	44	20	15	15	100	102	97	58	17	76	65	65	68	68	
47	39	4	2	2	88	34	25	23	29	94	99	100	100	97	
96	--	9	5	6	75	--	--	76	37	92	93	90	15	20	
100	44	6	4	2	97	94	71	48	26	102	100	101	99	99	
90	75	17	5	3	91	86	27	10	10	--	109	111	110	108	
95	85	24	4	1	99	99	94	18	7	99	99	103	103	101	

Meßwerte der Ammoniakkonzentration im Blut nach 6, 10, ... Minuten in Serie I, II und III. Die 4-Minuten-Werte sind als Bezugspunkte (100%) nicht einzeln eingetragen worden.

Tabelle 2

Serie I				Serie II				Serie III				60 Min.
0	10	40	60	0	10	40	60	0	10	40	60	
49	50	56	68	69	74	80	86	78	78	83	91	
82	97	114	129	78	83	90	93	44	60	56	68	
49	54	56	63	103	126	137	166	63	67	72	76	
104	125	125	122	46	68	71	80	108	115	120	123	
64	81	84	87	141	194	194	206	75	81	91	91	
122	172	189	206	92	113	144	149	135	140	150	155	
79	125	113	121	140	173	207	207	173	202	193	200	
56	81	89	102	116	180	184	244	321	400	405	426	
100	114	114	133	107	146	161	185	164	186	171	200	
97	113	108	169	172	186	172	177	113	120	123	127	

Meßwerte des Harnstoffs im Perfusat der Serien I, II und III.
 Die Ziffern geben die Menge des Harnstoffs in 1 l Perfusat
 berechnet auf 100 g Organgewicht an.

Tabelle 3

Serie I							Serie II							Serie III						
6	8	10	15	30	45	60	6	8	10	15	30	45	60	6	8	10	15	30	45	60 Min.
61	55	48	42	29	20	17	85	79	71	67	61	--	50	38	35	31	28	23	19	16
81	77	65	55	46	33	33	85	75	59	53	34	32	31	58	56	47	86	99	100	100
76	85	59	59	41	--	18	98	90	65	57	48	33	27	--	98	98	94	85	80	76
61	35	18	15	10	10	10	98	94	90	75	33	32	31	90	90	92	85	84	82	80
55	39	26	21	20	13	12								105	103	98	100	100	100	100
88	58	54	45	28	28	26								98	--	96	96	94	94	92
98	90	65	57	48	33	27														
29	21	20	12	8	6	6														

Jod¹³¹-Bengalrosa-Ausscheidung: die 4-Minuten-Werte der Impulsraten des Jod¹³¹ im Perfusionsmedium sind als Bezugswerte mit 100% festgesetzt worden.

Tabelle 4

Serie I					Serie II				Serie III				60 Min.
2	4	10	60		2	4	10	60	2	4	10	60	
1,80	0,71	0,45	0,04		1,60	0,86	1,13	0,16	1,56	1,30	1,23	1,09	
1,72	1,54	1,11	0,04		1,67	0,98	0,70	0,21	1,86	--	1,78	1,22	
1,46	1,24	0,02	0,02		1,80	1,00	0,94	0,14	1,92	1,54	1,45	1,21	
1,70	1,20	0,56	0,03		1,57	0,92	1,04	0,30	1,61	1,41	1,50	1,08	
1,62	1,12	0,48	0,02		1,55	0,84	0,75	0,13	1,60	0,95	1,58	1,19	

Einzelwerte der Galactosekonzentration im Perfusat (g/l) der Serien I, II und III.

Tabelle 5

Serie I		Serie II		Serie III	
30	60	30	60	30	60 Min.
87	18	82	77	44	54
41	30	88	68	133	133
71	33	79	69	86	91
57	17	64	58	90	84
55	43	78	76	90	74
64	22	61	29	93	93
68	60	93	88		

Meßwerte der Lactatkonzentration im Perfusionsmedium der Serien I, II und III. Der Lactatgehalt zum Zeitpunkt 0 ist mit 100% angegeben worden.

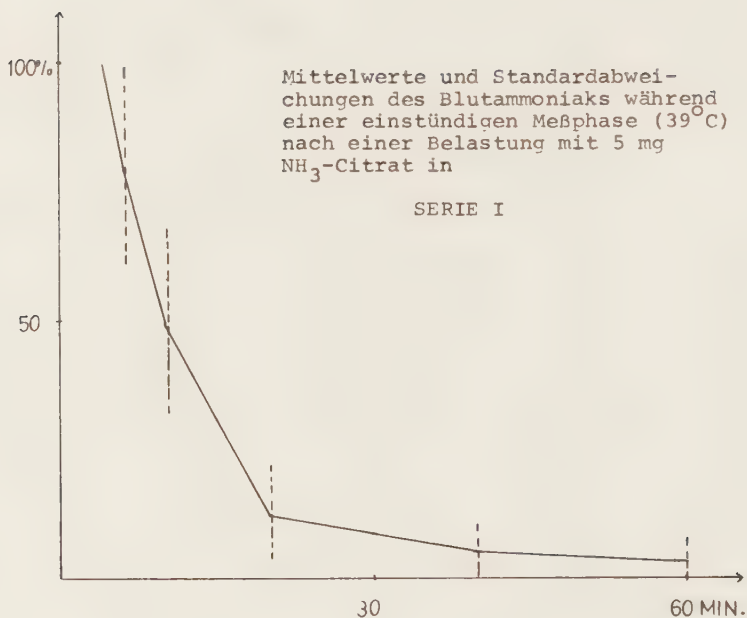


Abb. 1

Die Ammoniakbelastungsproben wurden in einer normothermen Meßphase durchgeführt, diese Periode dauerte eine Stunde nachdem ein steady state erreicht war. Zum Zeitpunkt 0 wurden 5 mg Ammoniumcitrat dem Perfusionsmedium zugeführt. Im allgemeinen war nach vier Minuten eine ausreichende Verteilung eingetreten, so daß dieser Wert als Bezugswert mit 100 % festgelegt werden konnte. Bereits nach 6 Minuten waren 20 % des NH_3 eliminiert. Nach 30 Minuten waren insgesamt 50 % und am Ende der einstündigen Meßphase 95 % ausgeschieden.

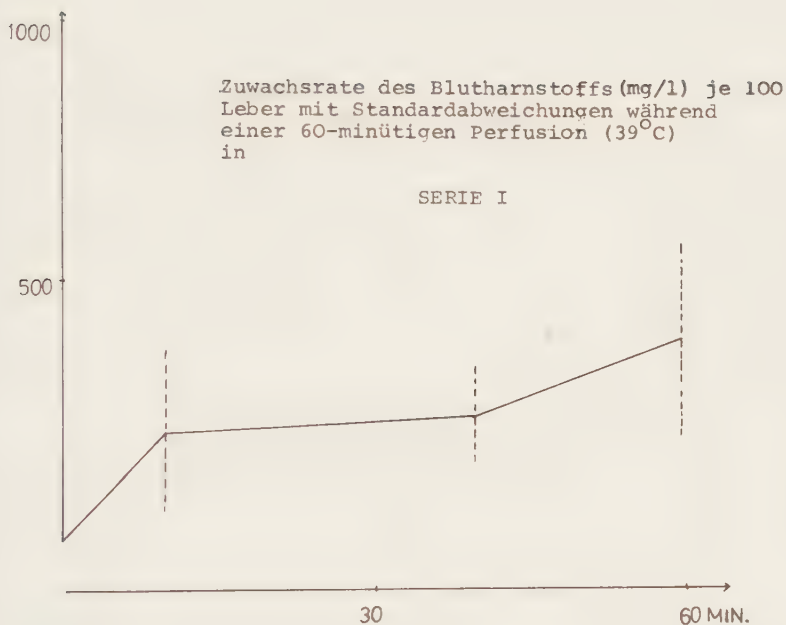


Abb. 2

Umgekehrt proportional der Ammoniak-Clearance verhielten sich die Serumharnstoffwerte. Da die Menge des produzierten Harnstoffs vom Gewicht der Leber abhängt, sind alle Werte auf 100 g Lebergewicht umgerechnet worden. Bereits wenige Minuten nach Gabe des Ammoniumcitrats setzte die Harnstoffsynthese ein. Schon nach 10 Minuten beträgt der Harnstoffanstieg im Perfusat 200 mg/l je 100 g Leber und nach einer Stunde sind 400 mg/l Harnstoff je 100 g Leber synthetisiert worden.

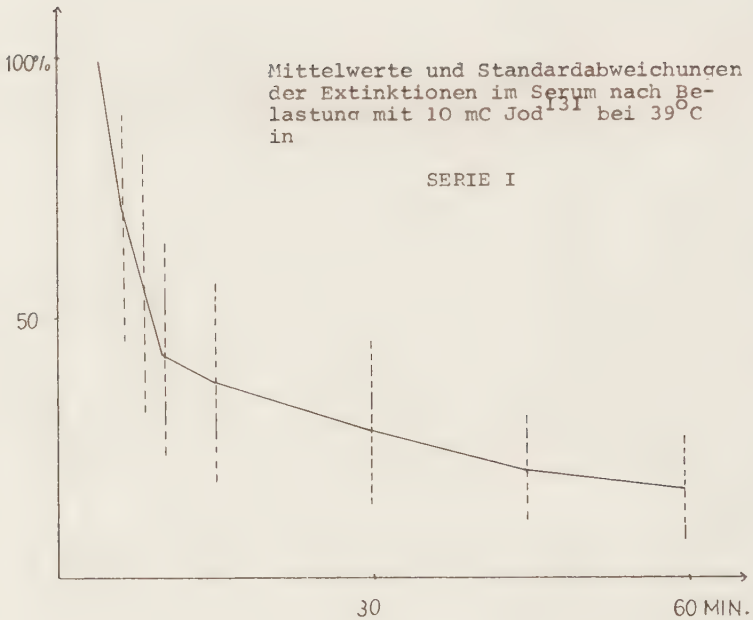


Abb. 3

Die Elimination von Jod¹³¹-markiertem Bengalrosa verläuft nahezu parallel der Ammoniakausscheidung. Der Höchstwert im Blut ist ebenfalls nach vier Minuten erreicht. In den ersten Minuten nach der Verteilung erfolgt der Abfall sehr steil. Schon nach 10 Minuten wurden 65 % des Bengalrosa ausgeschieden. Dann ist der Kurvenverlauf flacher, er nähert sich asymptotisch der Abszisse. Nach 60 Minuten beträgt der Endwert der Aktivität im Perfusat nur noch 18 ± 9 %.

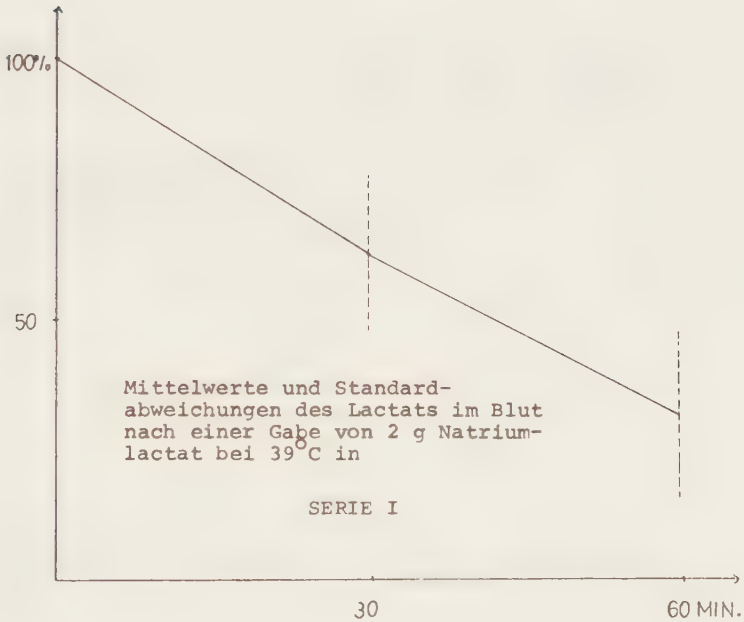


Abb. 4

Auch die Verstoffwechselung des Lactats ist unter den Versuchsbedingungen der Serie I nicht gestört. Bei einer Belastung mit 2 g Natriumlactat erfolgt der Abfall fast linear. Nach 60 Minuten waren 68 % des Lactats oxydiert und über den Zitronensäurezyklus metabolisiert worden.

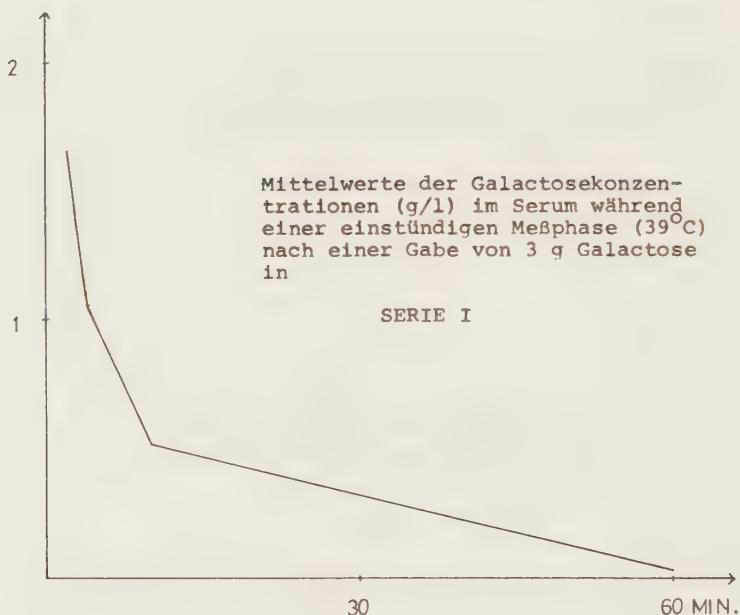


Abb. 5

Als weiterer Parameter ist die Verstoffwechselung der Galactose durch die Leber getestet worden. Diese Stoffwechselfunktion ist sehr empfindlich und durch äußere Einflüsse leicht zu stören. Als Testdosis wurden 3 g Galactose in das Perfusionsmedium gegeben. Von dieser wurden in der Serie I bei nicht eingeschränkter Leberfunktion nach 10 Minuten mehr als 60 % epimerisiert. Am Ende der 60-minütigen Meßphase lagen nur noch durchschnittlich 5 % der Galactose im Blut vor.

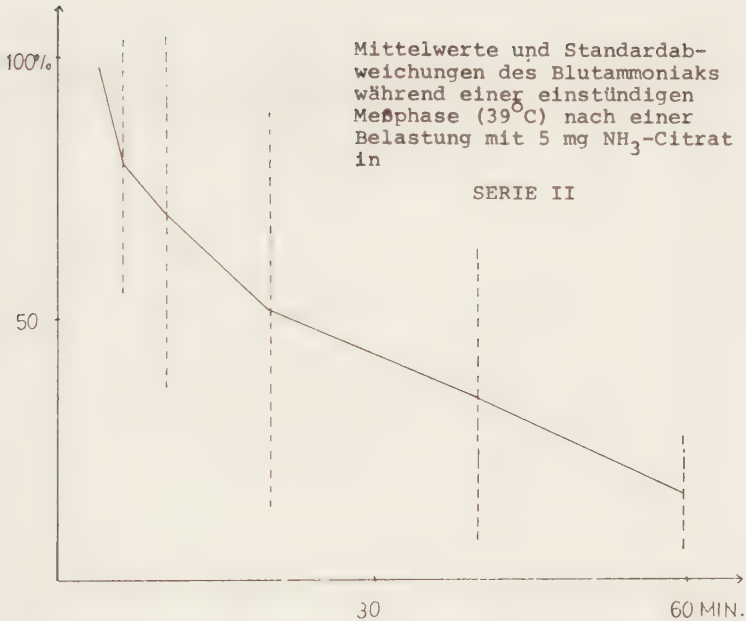


Abb. 6

In Serie II waren die Organe durch weniger günstige Konservierungsbedingungen bereits geschädigt. Das drückt sich deutlich in der NH_3 -Belastungsprobe aus. Erst nach 30 Minuten waren 50 % des Ammoniaks eliminiert. Dadurch ist der Kurvenverlauf flacher. Am Ende der Meßphase waren noch durchschnittlich 17 % des zugefügten NH_3 im Blut nachweisbar. Dabei liegt eine starke Streuung der Werte mit einer Standardabweichung von ± 11 % vor, da die Funktion bei den einzelnen Versuchen nicht im gleichen Umfange gestört war.

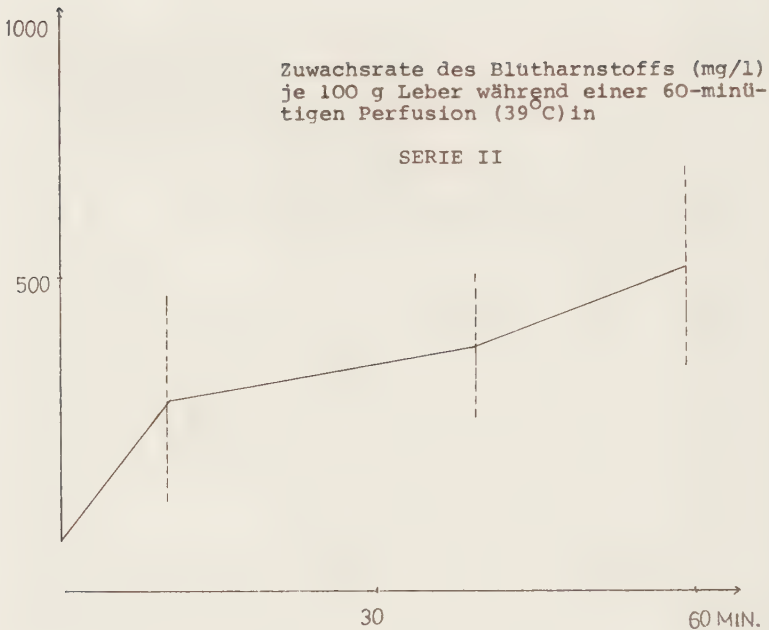


Abb. 7

Sehr aufschlußreich ist die Verlaufsbeobachtung der Harnstoffkonzentration im Serum. Trotz der deutlich eingeschränkten bzw. verzögert eingetretenen Elimination des Ammoniaks ist die Kapazität der Harnstoffproduktion noch voll erhalten. Bereits nach 10 Minuten beträgt die Zunahme 270 mg/l je 100 g Leber. Im weiteren Verlauf ist der Anstieg der in der Kurve abzulesen ist, wie in Serie I. Insgesamt betrug die Syntheserate 520 mg/l je 100 g Organgewicht.

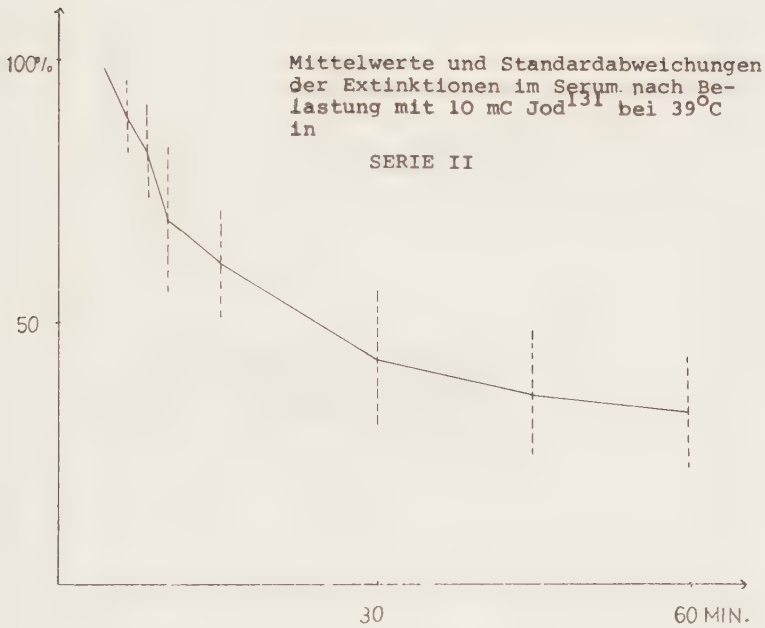


Abb. 8

Die Kurve der Jod¹³¹-Aktivität im Perfusionsmedium gleicht dagegen wiederum der Ammoniak-Eliminationskurve. Die Ausscheidung ist deutlich eingeschränkt. Erst nach 30 Minuten wurde die Hälfte des Farbstoffes in die Galle ausgeschieden. Nach einer Stunde können sogar noch 34 % der initialen Aktivität im Perfusat nachgewiesen werden.

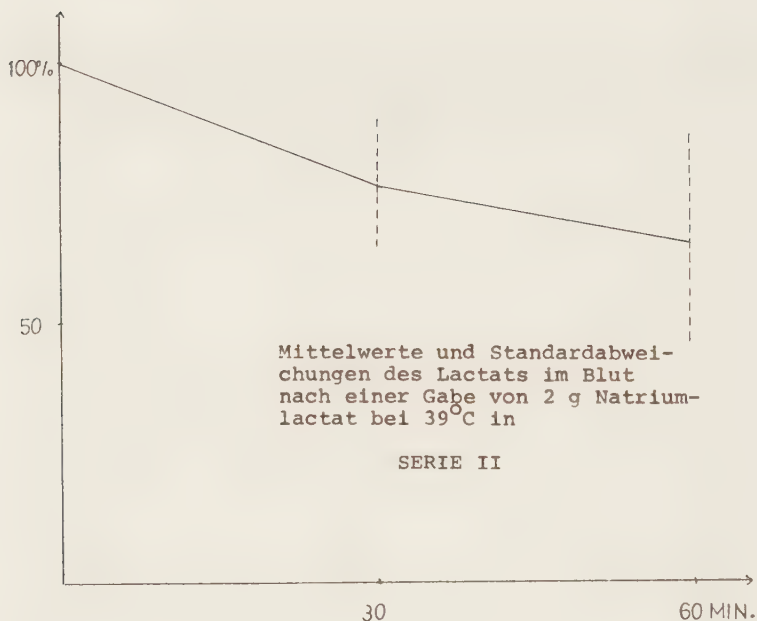


Abb. 9

In gleicher Weise ist auch die Oxidation des Serum-lactates herabgesetzt. Die Eliminationskurve verläuft nicht mehr linear wie in der ersten Serie, sondern fällt in der zweiten Hälfte der Meßphase sehr viel flacher ab. Am Ende der Meßperiode ist das Serumlactat mit $0,66 \pm 0,19$ g/l noch deutlich erhöht.

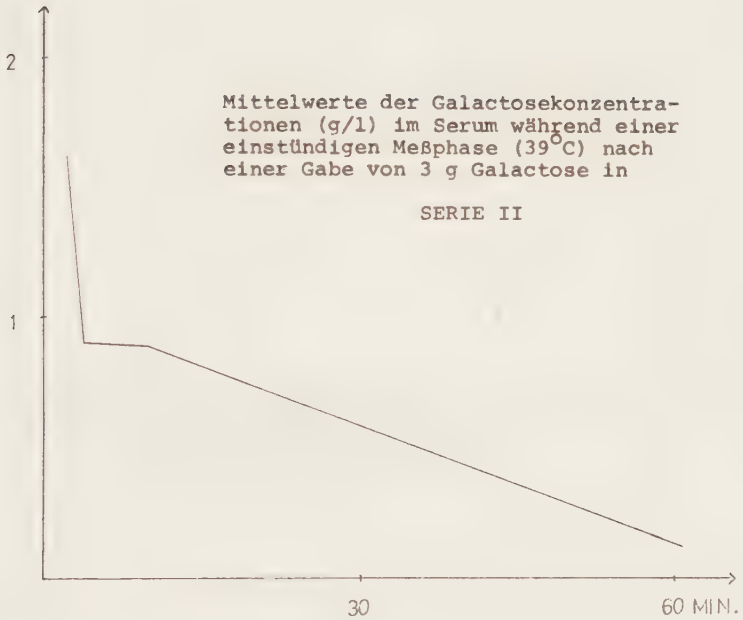


Abb. 10

Die Beeinträchtigung der Leberfunktion spiegelt sich noch stärker im Galactose-Belastungstest wieder. Die Epimerisation in Glukose erfolgt sehr stark verzögert, so daß noch nach einer Stunde fast 0,2 g/l Galactose im Serum nachgewiesen werden können.

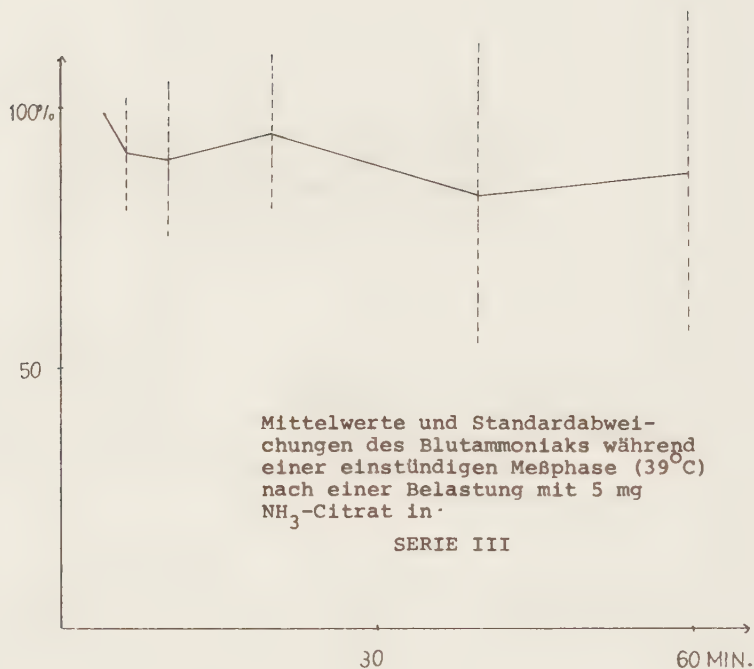


Abb. 11

Sehr eindrucksvoll ist das Verhalten der Funktionsproben in der Serie III, in der infolge verschiedener Ursachen die Leber hochgradig geschädigt war. An Hand der erhöhten Lactat-Pyruvat-Quotienten, der Transmineralisation und der histologischen Befunde konnte der irreversible Schaden dieser Organe nachgewiesen werden. Die Ammoniakelimination war bei diesen Lebern praktisch aufgehoben. Auch nach einer Stunde sind nur ca. 10 % des NH_3 verwertet worden. Die Differenz ist trotz der starken Streuung der Werte gegenüber der Serie I hochsignifikant.

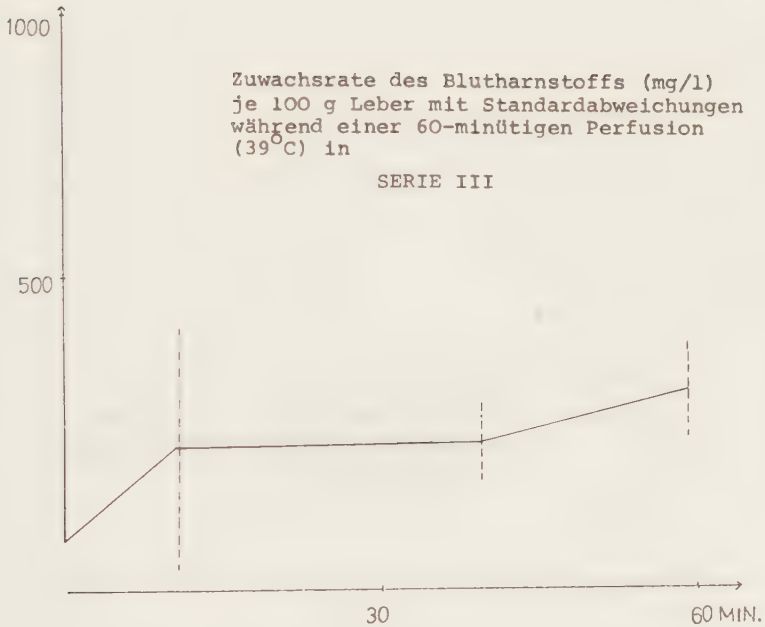


Abb. 12

In dieser Untersuchungsreihe ist auch die Harnstoffsynthese stark herabgesetzt. Das wird noch deutlicher, wenn der Anteil des Harnstoffs abgerechnet wird, der durch die bei der Anaerobiose erhöhte Auteoproteolyse aus dem Arginin entfällt.

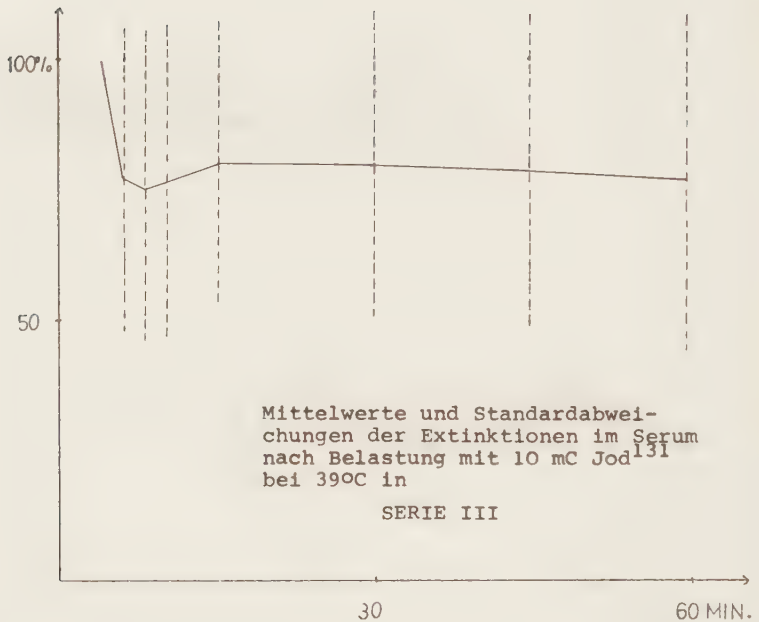


Abb. 13

Die Jod¹³¹-Aktivität im Blut fällt in Serie III nur geringfügig ab. Das markierte Bengalrosa wird also nicht ausgeschieden. Das kann auch durch die verminderte Aktivität des Jod¹³¹ in der Gallenflüssigkeit nachgewiesen werden, zumal auch die Galleproduktion nahezu vollständig aufgehoben ist.

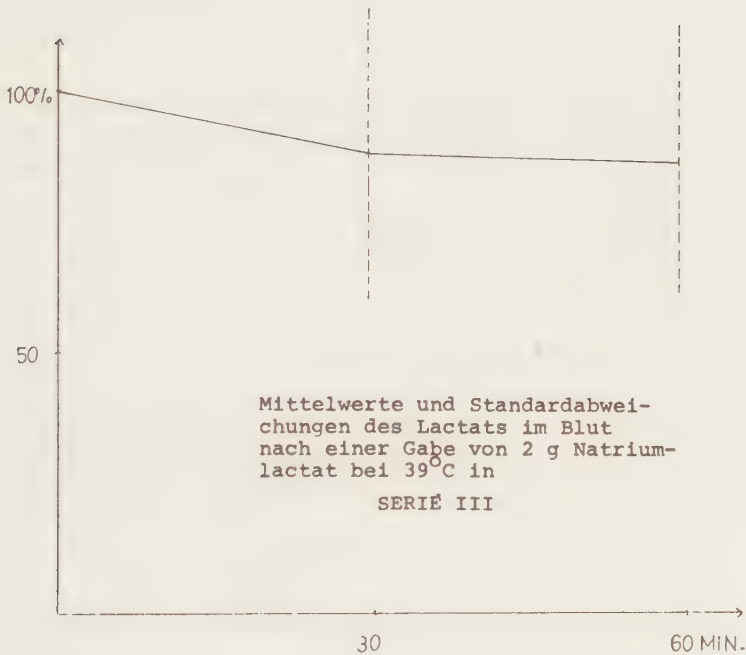


Abb. 14

Der Lactatgehalt des Serums fällt nicht ab. Er steigt in einigen Versuchen infolge des anaeroben Stoffwechsels sogar noch an. Das Pyruvat im Blut war bei allen Versuchen auf unter 10 % der Ausgangswerte abgefallen.

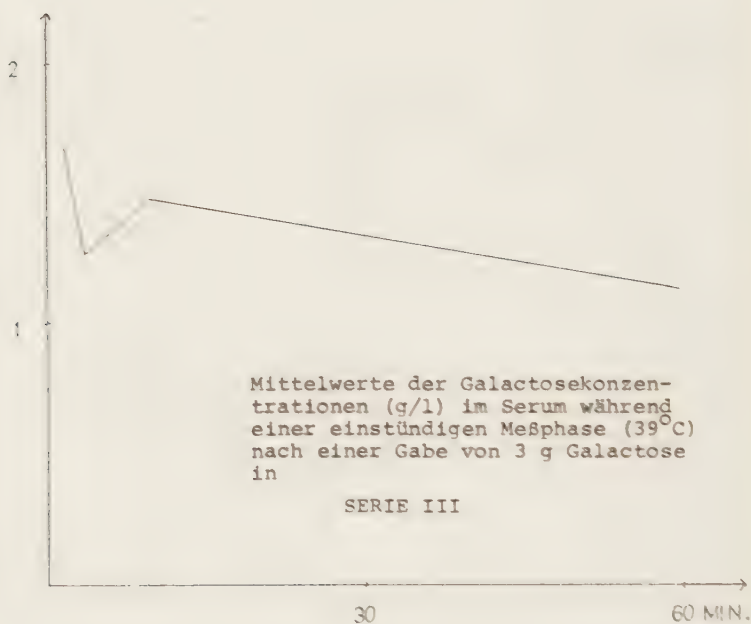
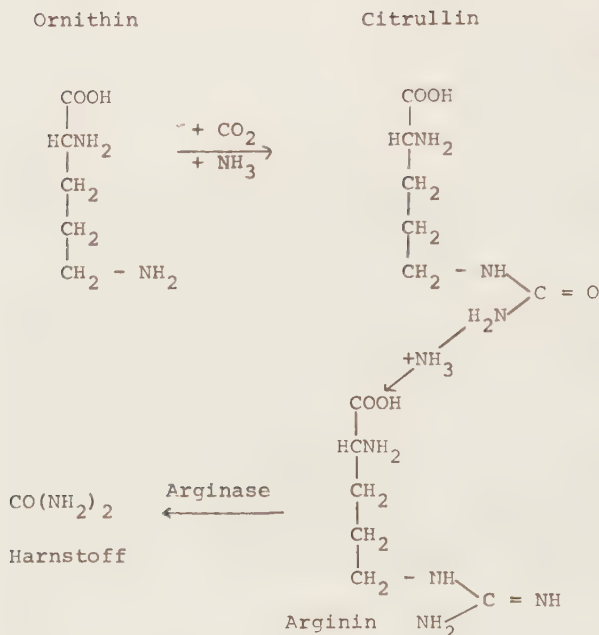


Abb. 15

Mit den übrigen Belastungsproben übereinstimmend sind die Ergebnisse der Galactose-Belastungsprobe. Am Ende der einstündigen Meßphase waren immer noch 1,27 g/l im Serum nachweisbar. Der Abfall betrug also weniger als 25 %.

2.5 Diskussion

Die Beurteilung der Vitalität isoliert perfundierter oder durch andere Verfahren konservierter Organe ist sehr schwierig. Insbesondere für die Leber gibt es keinen exakt definierbaren globalen Funktionstest, da selbst die so komplexe Aufbereitung und Exkretion der Galle nur einige Partialfunktionen der Leber widerspiegelt. Es sind daher zahlreiche Vorschläge gemacht worden, Teilfunktionen der Leber zu prüfen. Als eine der zentralen Aufgaben gilt die Harnstoffproduktion und Ammoniakelimination aus dem Blut. Wie bereits einleitend an Hand einer Abbildung von PFLEIDERER gezeigt wurde, erfolgt dieses im wesentlichen in drei verschiedenen Formen: einmal steht der gasförmig im Serum gelöste Ammoniak im Gleichgewicht mit den Ammoniumionen, die über die Niere ausgeschieden werden können, zum anderen kann Ammoniak dadurch aus dem Blut eliminiert werden, daß er an Stoffwechselzwischenprodukte wie alpha-Ketoglutar Säure, Glutamat und Oxalacetat angelagert wird. Die dritte Möglichkeit ist die Entgiftung im Krebs-Johnson-Zyklus durch Bildung von Harnstoff.



Dabei werden zwei Moleküle Ammoniak gebunden, und es entsteht wieder Ornithin, so daß der Kreislauf wieder von neuem beginnen kann. Diese Stoffwechselfunktion ist gegen Schädigungen jedoch sehr resistent (ABOUNA 61), LAWRENCE (22), BOHLEY (2)). Selbst eine stark geschädigte Leber vermag den Blutammoniak noch zu verarbeiten und die Harnstoffproduktion aufrecht zu erhalten. Das läßt sich sehr eindrucksvoll an Hand der Serie II dokumentieren. Hier ist die Clearance von Bengalrosa, Lactat und Galactose bereits deutlich eingeschränkt, und auch die NH_3 -Elimination ist verzögert. Die Harnstoffproduktion läuft dagegen noch völlig uneingeschränkt ab. Ein besonders eindrucksvolles Beispiel sei nachfolgend dargestellt:

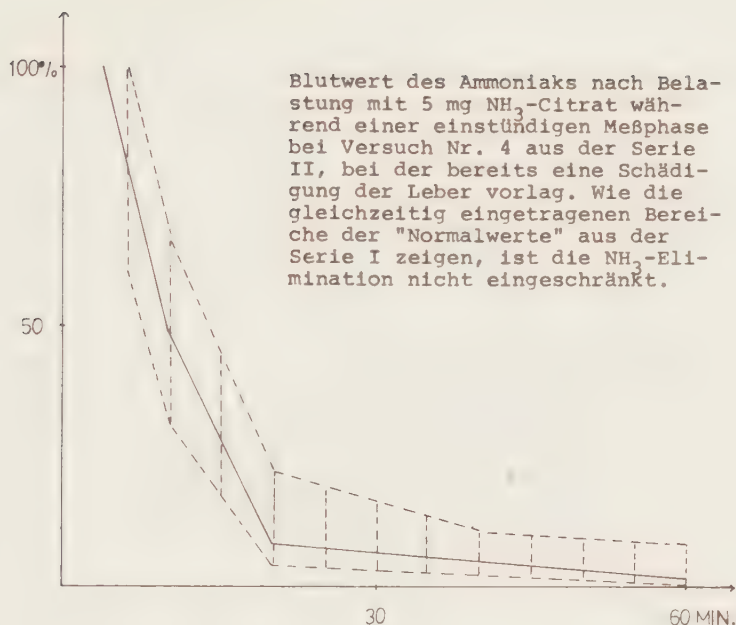


Abb. 16

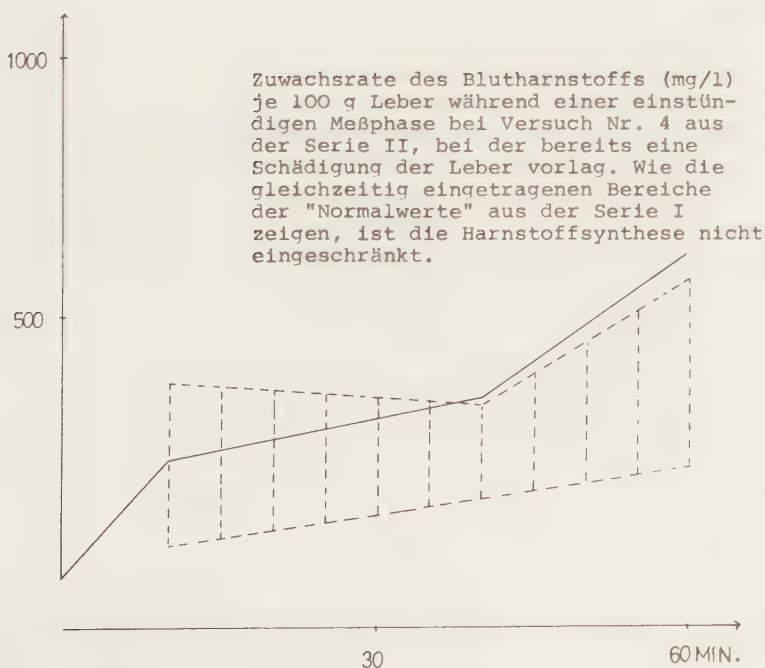


Abb. 17

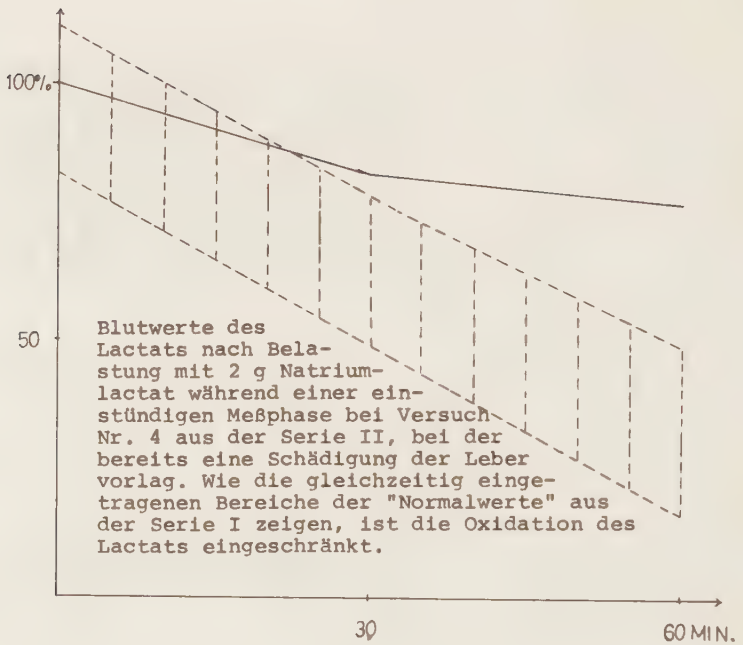


Abb. 18

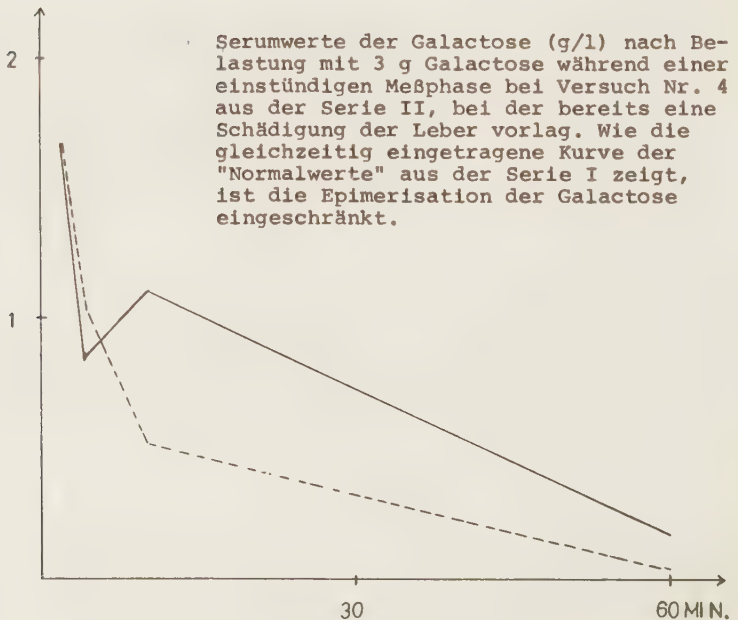


Abb. 19

Hier ist die NH_3 -Clearance noch erhalten und die Harnstoffproduktion noch intakt, die sehr empfindlichen Lactat- und Galactosetests aber bereits stark gestört. Die Ammoniakelimination und die Harnstoffsyntheserate sind Vorgänge, die bereits zahlreiche Autoren untersuchten. So stellte LAWRENCE die Behauptung auf, daß der Ammoniaktoleranztest nicht leberspezifisch sei und daß bei NH_3 -Intoxikation das arterielle NH_3 höher ist als das venöse. HELL (15) meint, daß bei einer Perfusion auftretende Schädigungen durch BSP- und Ammoniakclearance nicht oder nur in bescheidenem Maße angezeigt werden. Andere Autoren, z.B. KESTENS (18), fanden eine Reduktion von Ammoniak im Blut in 15 Minuten auf 60 % und in 45 Minuten auf 10 %; ABOUNA stellte fest, daß 20mg/l in 20-30 Minuten eliminiert werden. ROMER gab 1 g ins Perfusat und es wurden 83 % in 30 Minuten ausgeschieden.

Die Harnstoffsyntheserate gibt KATZ (17) mit 30 mol/h/100 g Körpergewicht; HAFT (14) mit 9,3 mg/10 g Leber in 3,5 Stunden und LINZELL (24) mit 60-100 mg/100 g Leber/h an. Die verhältnismäßig große Unempfindlichkeit der Leber gegen Störungen der Harnstoffsynthese und der Ausscheidung von Ammoniak aus dem Blut beruht auf der Tatsache, daß noch kleine Bezirke eines geschädigten Organs in der Lage sind, diese Stoffwechselvorgänge aufrecht zu erhalten. Trotzdem verliert der NH_3 -Test nicht seinen Wert für die Beurteilung der Leberfunktion. Das lassen die Ergebnisse der drei Untersuchungsreihen sehr deutlich erkennen. Bei einem Vergleich von Serie III mit Serie I verhalten sich die Ammoniakwerte sicher signifikant bei 10, 20, 40 und 60 Minuten. Harnstoff ist während der einstündigen Meßphase nicht signifikant. Jod ¹³¹ ist wahrscheinlich signifikant beim 10-Minuten-Wert und sicher signifikant bei 15, 30, 45 und 60 Minuten. Lactat ist wahrscheinlich signifikant bei 30 Minuten und sicher signifikant bei 60 Minuten.

3. Zusammenfassung

Die Beurteilung der Lebensfähigkeit und Funktion der isoliert durchströmten Leber ist bei der Organkonservierung ein wichtiger und schwieriger Punkt. Im Gegensatz zur Niere, bei der die Urinproduktion guten Einblick in ihre Funktion gibt, steht uns für die Leber kein Test zur Verfügung, der einen Rückschluß auf die Gesamtfunktion des Organs erlaubt. Selbst die komplexe Aufbereitung und Exkretion der Galle spiegelt nur einige Partialfunktionen wider. Für die Funktionsdiagnostik der Leber braucht man daher verschiedene Parameter, um über die Integrität der Organe Aussagen machen zu können. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit die Harnstoffproduktion und die NH_3 -Elimination aus dem Blut Auskunft über Schädigungen geben können und in welcher Zeit Ammoniak verstoffwechselt wurde. In den eigenen Untersuchungen waren unter optimalen Bedingungen (Serie I) nach 6 Minuten 20 % und nach 30 Minuten 50 % eliminiert worden. Bei einer Schädigung der Organe war die NH_3 -Clearance eingeschränkt (Serie II) bzw. vollständig aufgehoben (Serie III). In gleicher Weise verhält sich die Harnstoffproduktion. Diese war jedoch in Serie II, in welcher die NH_3 -Elimination schon gestört war, noch voll erhalten. Im Vergleich mit der Galactosebelastung Lactat- und Bengalrosaausscheidung wird ersichtlich, daß die Leber bei Schädigungen Teilfunktionen z.T. noch ausüben kann. Bei den isoliert perfundierten Organen fanden wir unter den von uns gewählten Bedingungen, daß die NH_3 -Clearance und Harnstoffsynthese relativ unempfindlich sind; insbesondere scheint die Störung der Harnstoffproduktion erst sehr spät einzutreten. Eine aufgehobene Harnstoffsynthese zeigt daher stets einen bereits fortgeschrittenen und unter den Bedingungen der Konservierung irreversiblen Leberschaden an.

Literaturverzeichnis

1. ABOUNA, G.M.,
T. ASHCROFT,
G. DALE,
C. HULL and
J. KIRKLEY:
The assessment of function of the
isolated liver perfused with homo-
logous blood.
Brit.J.Surg. 55, 388 (1968)
2. BOHLEY, P. und
H. HANSON:
Perfusionsversuche an autolysierenden
Rattenlebern.
Hoppe-Seyler 2. Physiolog. Chemie
Bd. 337, 16 (1964)
3. BROWN, R.H.,
G.D. DUDA,
S. KORKES and
P. HANDLER:
A colorimetric micromethod for
determination of ammonia; the ammonia
content of rat tissues and human
plasma.
Arch.Biochem.Biophys. 66, 301 (1957)
4. CONWAY, E.J.:
Microdiffusion analysis and volumetric
error, 4th revised edit.
London: Crosby Lockwood & Ltd. (1957)
5. CONWAY, E.J. and
E. O'MALLEY:
Microdiffusion methods: ammonia and
urea using buffered absorbents
(revised methods for ranges greater
than 10 μ gramm N).
Biochem. J. 36, 655 (1942)
6. DENNIG, H.:
Lehrbuch der inneren Medizin.
Georg Thieme Verlag Stuttg. (1966)
7. DIENST, S.G.:
An ion exchange method for plasma
ammonia concentration.
J.Lab.clin.Med. 58, 149 (1961)

16. HUTCHINSON, J.H. and J.H. LABBY: New method for microdetermination of blood ammonia by use of cation exchange resin. J.Lab.clin.Med. 60, 170 (1962)
17. KATZ, J., G. BONORRIS, S. OKUJAMA and A.L. SELLERS: Albumin synthesis in perfused liver of normal and nephrotic rats Amer.J.Physiolog. 212, 1255 (1967)
18. KESTENS, P.J., W.G. AUSTEN and W.V. McDERMOTT jr.: Biochemical and physiological studies on the viable extracorporeal liver Surg. Forum 10, 225 (1959)
19. KIRSTEN, E., C. GEREZ und R. KIRSTEN: Eine enzymatische Mikrobestimmung des Ammoniaks, geeignet für Extrakte tierischer Gewebe und Flüssigkeiten. Biochem.Z. 337, 312 (1963)
20. KONITZER, K. und S. VOIGT: Direktbestimmung von Ammonium in Blut- und Gewebsextrakten mit der Phenol-Hypochloritreaktion Clin. chim. Acta 8, 5 (1963)
21. LAMBILOTTE, J.P. and J.C. PECTOR: Influence of selective hepatic vascular perfusion on ammonia metabolism in dog Congr.Kopenhagen Juli (1970)
22. LAWRENCE, W. jr., A.E. SCHWARTZ, K.E. ROBERTS and H.T. RANDALL: Tolerance of eviscerectomized dog to exogenous ammonium salts Surg. Forum 8, 239 (1957)
23. LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie Walter de Gruyter & Co. Berlin (1959)

24. LINZELL, J.L.,
B.P. SETCHELL and
D.B. LINDSAY: The isolated perfused liver of the
sheep: an assessment of metabolic,
synthetic and excretory functions.
J. Exp. Physiolog. 56, 53 (1971)
25. MARTINI, G.A.: Die Bedeutung des Blutammoniaks
für die Entstehung des Leberkomas.
Dtsch.med.Wschr. 86, 1351 (1961)
26. MARTINI, G.A. und
J.P. WIEBEL: Ammoniakbestimmung im Blut zur
Differentialdiagnose akuter Blu-
tungen im oberen Verdauungskanal.
Med.Klin. 59, 618 (1964)
27. MEHNERT, H.,
M. HASLBECK und
H. FÖRSTER: Über den Wert der Galactosebela-
stungsprobe bei enzymatischer
Bestimmung der Galactose im Blut.
Dtsch. med. Wschr. 40, 1899 (1968)
28. MILLER, G.E. and
J.D. RICE: Determination of the concentration
of ammonia nitrogen in plasma by
means of a simple ion exchange
method.
Amer. J.clin. Path 39, 97 (1963)
29. MÜLLER-BEISSENHIRTZ, W.,
H. KELLER: Zur Bestimmung des Blutammoniaks.
KLin. Wschr. 43, 43 (1965)
30. MÜTING, D.,
H. BREIKOWSKI,
W. ESCHRICH,
H. BUHL und
G.A. JUTZLER: Zur Pathogenese und Klinik des
Coma hepaticum.
Dtsch. med.Wschr. 33, 1449 (1966)

31. NASH, T.J. jr. and
S.R. BENEDICT: The ammonia content of the blood,
and its bearing on the mechanism
of acid neutralization in the
animal organism.
J. Biol. Chem. 48, 463 (1921)
32. NATHAN, D.G. and
F.L. RODKEY: A colorimetric procedure for the
determination of blood ammonia.
J. Lab. clin. Med. 49, 779 (1957)
33. NENCKI und ZALESKI: zit. nach Stanojevic
34. OTTO, J.J.,
J.C. PENDER,
J.H. CLEARY,
D.M. SENSENIG and
C.S. WELCH: The use of a donor liver in
experimental animals with elevated
blood ammonia.
Surg. 43, 301 (1958)
35. PARNAS und HELLER: zit. nach Stanojevic
36. PEARLMAN, D.M.: The effect of glutamate
administration on blood ammonia
level and its correlation with
clinical status in patients with
hepatic coma.
Surg. Forum 6, 364 (1955)
37. PFLEIDERER, Th.: Das Leberkoma - Klinik und
Biochemie.
Dtsch. med. Journal 10, 381 (1968)
38. PHILIPPS, S.F.,
E. WOLPERT and
W.H.J. SUMMERSKILL: Production of ammonia in the human
colon: effects of treatment for
hepatic coma and role of urea
hydrolysis.
Kopenhagen Juli (1970)

39. ROMER, J.F.,
W.J. KENNEL, and
J.E. ROOD jr. and
J.C. DARIN:
Ex vivo perfusion of cadaver
livers.
Surg. Forum 18, 370 (1967)
40. SCHMIDT, F.W.:
Der Internist.
8.Jahrgang Heft 12, 431 (Dez.1967)
41. SCHMIDT, F.H. und
M. SCHWARZ:
Über die enzymatische Ammoniak-Bes-
timmung im Blut.
Klin. Wschr. 44, 591 (1966)
42. SCHMITT, W.,
G. LAZARUS und
H. BRAUN:
Die klinische Wertigkeit des
kapillaren Blutammoniakgehaltes
nach oraler Ammoniumbelastung bei
Leberkrankheiten mit und ohne
portocavale Kollateralkreisläufe.
Med. Welt 27, 1259 (1970)
43. SELIGSON, D. and
K. HIRAHARA:
The measurement of ammonia in
whole blood, erythrocytes and
plasma.
J. Lab. clin. Med. 49, 962 (1957)
44. SIEGENTHALER, W.:
Klinische Pathophysiologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1970)
45. SLYKE VAN, D.D. and
A. HILLER:
Determination of ammonia in blood.
J. Biol. Chem. 102, 499 (1933)
46. STANOJEVIC, L.:
Die physiologische und klinische
Bedeutung des Blutammoniaks.
Dresden + Leipzig Theodor Steinkopff
(1938)

Herrn Professor Dr. R. Häring danke
ich für die Überlassung des Themas
und die Durchsicht des Manuskripts.
Herrn Dr. J. Waldschmidt möchte ich
für seine wertvolle Unterstützung
und die vielseitigen Anregungen bei
der Anfertigung dieser Arbeit danken.

Lebenslauf

Am 11. Mai 1943 wurde ich Volker, Theo, Karl, Wilhelm Goehlich, als Sohn des Zahnarztes Harald Goehlich und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Kaiser, als zweites von drei Kindern in Berlin geboren.

Mein Vater verstarb am 21. April 1965 und meine Mutter am 6. Juli 1968.

Von 1949 bis 1955 besuchte ich die 20. Grundschule in Berlin-Charlottenburg, wechselte dann auf die Robert-Bosch-Schule (3.O.T.Z.) und ging 1959 auf die Carl-Friedrich-von-Siemens-Schule (neusprachliches und mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium) über, an der ich am 28. Februar 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Am 31. Oktober 1963 wurde ich zum Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin zugelassen. Am 11. April 1967 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und am 25. Februar 1970 mein Staatsexamen.

Vom 16. März 1970 bis zum 1. April 1971 war ich in der Poliklinik und Klinik für Zahn-Mund- und Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin als wissenschaftlicher Assistent beschäftigt. Ich bin jetzt als Vertreter in einer Kassenpraxis tätig.

